中華農業研究 27(3)：259～266 (1978).

稻屬種間雜交後幼胚及胚乳發育過程之研究[1]

張 德 梅[2]

摘要：利用栽培稻 (*Oryza sativa* L.) 臺中 65 號與野生稻 (*O. officinalis* Wall) 品種雜交之 F_1 為材料，由授粉後 1～10 日之種子，經固定，脫水，石蠟包埋，作成 10～15μ 之切片，觀察種子之發育過程，並以人工授粉方式，將去雄後的臺中 65 號品種為母本，再將臺中 65 號之花粉授配，以便採取受精相同時日之種子作為對照。

水稻經人工授粉後，正常種子之發育縱向比橫向快，授粉後 4 日，縱向發育完全，授粉後 6 日橫向發育完全。雜種 F_1 種子，授粉後 1～4 日，胚及胚乳之發育與正常種子無甚差別，自第5日開始胚乳由外向內漸漸變成細長一條，胚部變化較小，第 6 日開始胚及胚乳均已變形，胚乳細胞組織分裂不規則，胚盤異常膨大，第 8～10 日除胚發育成畸形外，胚乳完全退化，胚乳退化可由組織培養得到雜種第一代，而胚之畸形發育，在吸取養分上是一阻礙，因此，在育種時，採取 1～4 日之幼胚培養而獲得雜種 F_1 植株之機會最大。

稻屬 (*Oryza*) 種間雜交，一般認為是水稻育種方法之一。可先明瞭野生品系的特性，然後行雜交或偏向回交 (intrgression)，將野生稻有用的遺傳因子引入栽培稻內，但又常由於兩親性的不和諧而遭受到阻礙及困難。最近十幾年來，由於組織培養技術之進步，已可由幼胚培養 (embryo culture) 的方法而得到雜種第一代；又以秋水仙鹼引致染色體倍加之發現及回交育種法之應用等，亦可提高育種效率；因此，遠緣雜交之利用，成為作物育種方法之一。

水稻種間雜交，如同其他多數作物一樣，有高度之雜交不和合性 (cross incompatiability) 與雜種不稔性 (hybrid sterility) 存在。但早在 1935 年，即用栽培稻 (*O. sativa*) 與野生稻 (*O. latifolia* 及 *O. cubensis*) 雜交而獲得成功[(1)]，從此以後，對於稻屬植物的種間雜交及各個種的染色體組鑑定之研究日益增多[(2,3,4,5,6,9)]等為其著者，他們的研究結果，除Li *et al.* (1961) 獲得一個節間雜交 (inter-sectional cross) 組合外[(3)]，其餘所得的種間雜種均僅限於 Sativa 節者，在稻屬分類表中[(7)]，其餘三節內的種在雜交試驗中均未獲成功。

一般植物種間雜交不能成功，最常見之現象有下列四類：1.授粉後花粉不能發芽；2.發芽後花粉管不能正常生長；3.授精作用受阻；4.授精後胚及胚乳不能發育成正常的種子。上述四點困難，如果用組織學的方法，找出不能成功的眞正原因，即可設法以人為的方法克服此種障礙。

本試驗之目的，是利用野生稻 (*O. officinalis*)，此品種是臺灣省農業試驗所自菲律賓國際稻米研究所引進，及栽培稻臺中65號為材料，將其雜交，利用組織切片法，觀察幼胚及胚乳的發育過程，並與栽培稻自交所得之結果加以比較，期能明瞭種間雜交不成功之眞正原因，以作為進一步改良稻種之依據。

材料與方法

試驗材料

---

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告 第 846 號。本研究承臺大陳其昌教授指導；圖片照相承本所植物病理系杜金池主任指導，謹申謝忱。

2. 本所農藝系技佐。

O. sativa L. 即普通栽培稻品種，臺中 65 號。染色體數 2n=24 ，染色體組爲 AA。

O. officinalis Wall ： 亞洲南部原產之多年生野生稻。染色體數 2n=24，染色體組爲 CC。

試驗方法

將栽培稻（臺中 65 號）種子 30 粒，催芽後盆栽，每兩週播種一次，以配合野生稻開花時間而進行雜交。野生稻栽培于田間，以供採取花粉之用。雜交方法採用一般的溫水去雄法，即將栽培稻未張開而成熟的穎花浸于 42°C 溫水中七分鐘，去雄後之母本，剪掉未張開的小花，將野生稻的花粉塗抹於母本之柱頭上，授粉完畢後，記錄日期，以備採取授粉後若干時日之種子。栽培稻之花粉亦授粉於栽培稻母本之柱頭上，記錄日期，以便採取相同時日之種子，以資對照。

材料固定，係採取授粉後 1～10 日的種子，經 FAA (50% ethyl alcohol 90 ml, glacial acetic acid 5 ml 及 formalin 5 ml) 固定，經 TBA series 脫水，再以石蠟置換包埋，用切片機切成 10～15μ 厚的蠟帶，以 Delafied's hematoxylin method 染色，做成永久切片，以供觀察和照相。

試驗結果

一、種子之發育過程

授粉後 2，4，6，7，8，9 及 10 日之種子外部形態（圖 1），正常之種子（臺中 65 號×臺中 65）表面光滑，內部飽滿，與自交授粉之種子相同；雜交種子（臺中 65 號×*O. officinalis* Wall）則在授粉後 4 日，外部形態即有異常之趨向，種子形狀不規則，胚部凸出，尖端彎曲而尖細，甚至種子尖端部分有枯乾之現象。

二、組織切片觀察

（一）胚之發育：

1. 正常胚：水稻花經人工去雄及授粉後，採取授精後不同日數之種子，由切片觀察胚部及胚乳之發育，結果發現授精後之胚，一天比一天增大，到第 10 日已發育完全。以胚部放大（圖 12）可看出，授粉後 5 日之胚，已形成幼根原始體（r），幼芽原始體（pl）；圖 18 爲授粉後 8 日之胚，增加了鞘葉（c），第 1 本葉（lL），胚盤維管束（Sb），根冠（rc），胚軸（T）等。圖 21 爲授粉後 10 日之胚，增加了子葉節而各部器官發育完成。

2. 雜種胚：雜種胚在授粉後 5 日以前與正常胚無甚差別，在授粉後第 6 日（圖 14），雜種胚之細胞已畸形發育，其中胚盤（S）及幼芽原始體（pl）開始變大，授粉後第 8～10 日（圖 17；20），胚部各器官全部畸形，以至無法辨認出各部名稱。

（二）胚乳之發育：

1. 正常胚乳：水稻花授粉後谷粒之發育，縱向比橫向發育快，授粉後第 4 日（圖 8），谷粒之長度發育完全，授粉後第 10 日（圖 19），谷粒之寬度及厚度發育完全。胚乳是三倍體，授粉後一日（圖 2），胚乳細胞核開始分裂比胚分裂快，授粉後一天的細胞核都是排在胚囊外圍，授粉後第 3～5 日（圖 6；8；10），胚囊內充滿了胚乳細胞，授粉後第 6 日（圖 13），胚乳細胞已經發育完成，水分漸漸減少，澱粉累積充滿整個種子，授粉後第 8～10 日（圖 16；19），胚乳發育過程全部完成。

2. 雜種胚乳：前已述及，雜種谷粒之胚，在授粉後第 5 日以前（圖 3；5；7；9；12）與正常胚無異，但胚乳變化之時間較胚早 1～2 日左右，即在授粉後第 4 日（圖 9）之胚乳已漸漸變成一條細長，授粉後第 6 日（圖 14）胚乳細胞不規則，授粉後第 8～10 日（圖 17；20）胚乳全部退化，胚之畸異發育而佔滿了整個種子而使種子也變成畸形。

討　論

栽培稻×野生稻（Taichung 65×*O. officinalis* Wall）之雜種 F_1，其成功率很高，由於此兩種同屬於 ROSCHEVICZ 之第一節內，雖屬不同的染色體組，但 A×B 及 B×C 均爲可稔的（10），因此很順利的得到所需要的材料，由切片觀察結果，雜種胚在授粉後5日以前與正常胚無甚差別，第6日之胚開始發育成畸形，尤其是胚盤（scutellum）顯著增大。胚乳之發育在授粉後第4日以前與正常胚乳無甚差別，但第4日以後，漸漸開始退化，退化方向由外向內變成細長一條胚乳，至第8日胚乳全部退化。

雜種 F_1 之培養，如胚乳退化可由組織培養（胚培養）供給養分，胚之異常發育，在吸收營養方面可能有阻礙，將來可否發育成爲正常植株有待進一步研究。

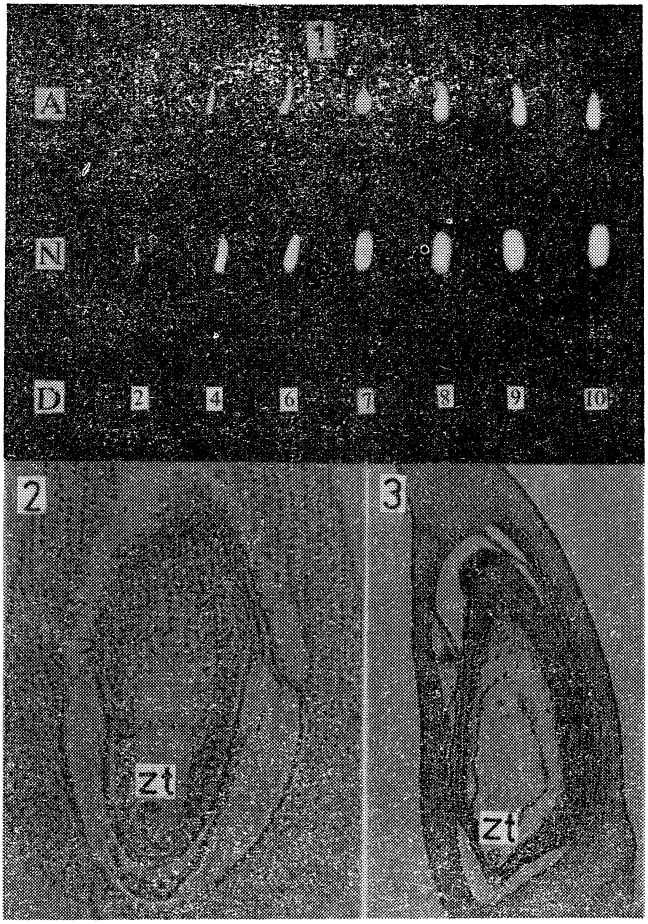


圖 1. 授粉後不同階段自交及雜交水稻種子發育狀況之比較。圖 2. 臺中 65 號×臺中 65 號，授粉後 1 天之卵細胞。圖 3. 臺中 65 號 *O. officinalis* Wall. 授粉後 1 天之卵細胞。 A：臺中 65 號×*O. officinalis* Wall.（Taichung 65×*O. officinalis* Wall），N：臺中 65 號×臺中 65 號（Taichung 65×Taichung 65）D：授粉後日數（Days after pollination），zt：結合子（zygote）.

Fig. 1. Appearance of selfed and crossed rice seeds at different developmental stage. **Fig. 2.** An F_1 zygote of Taichung 65 (*O. sativa L.*) ×TC 65. 1 day after fertilization. 580 x. **Fig. 3.** An F_1 zygote of TC 65×O. *officinalis* Wall. 1 day after fertilization. 155 x.

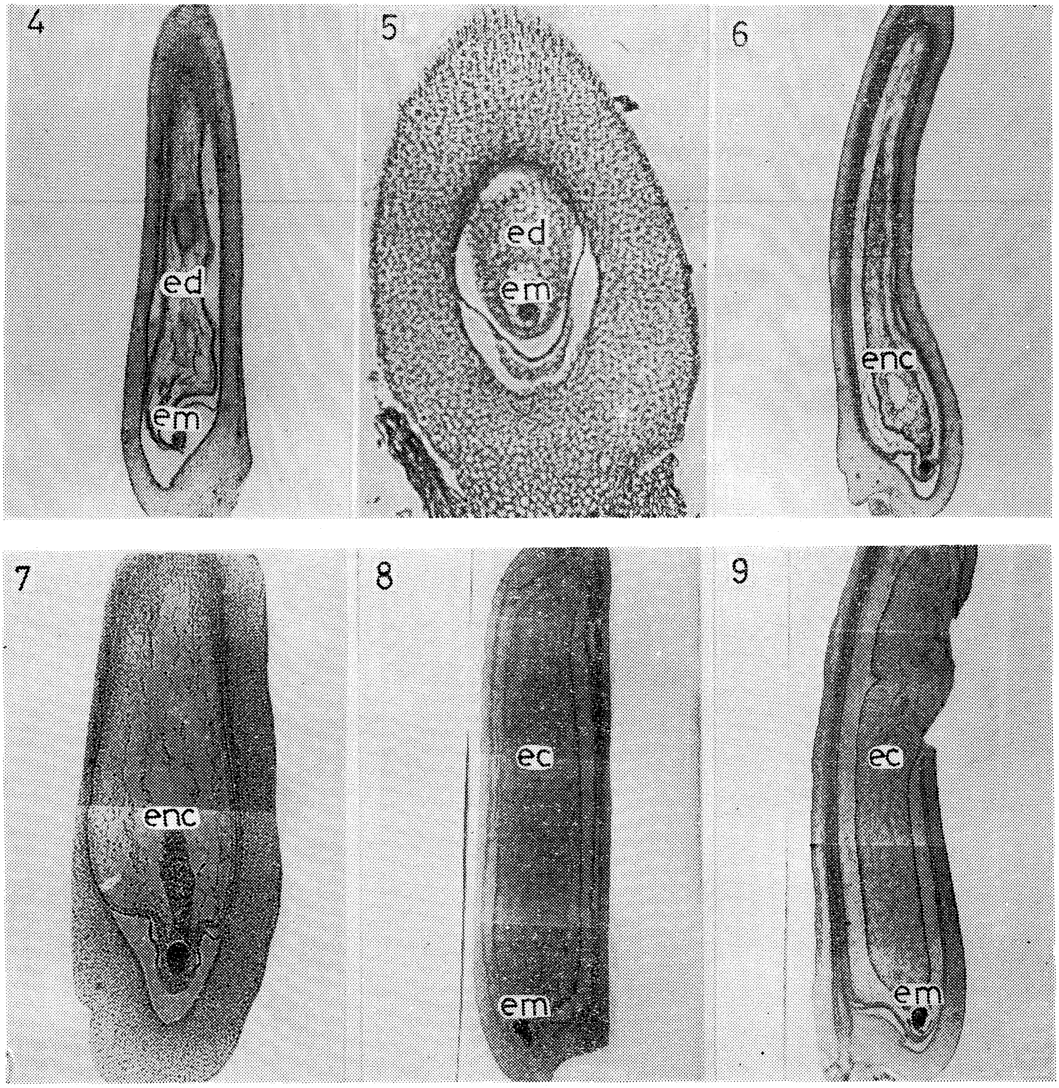
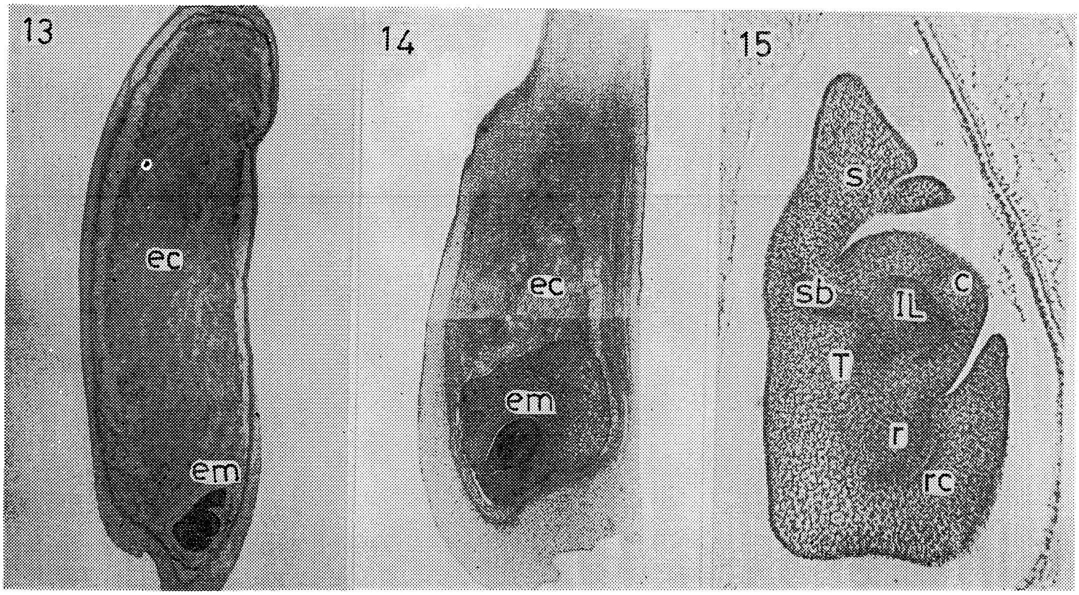


圖 4. 臺中 65 號×臺中 65 號及圖 **5.** 臺中 65 號×*O. officinalis* Wall, 授粉後 2 天之胚乳細胞。圖 **6.** 臺中 65 號×臺中 65 號及 圖 **7.** 臺中 65 號×*O. officinalis* Wall，授粉後 3 天之胚及胚乳細胞。圖 **8.** 臺中 65 號×臺中 65 號及圖 **9.** 臺中 65 號×*O. officinatic* Wall, 授粉後 4 天之胚及胚乳細胞。ed：胚乳核 (endosperm nuclei), em：胚 (embryo), enc：胚乳細胞層 (endosperm cells), ec：胚乳細胞組織 (endosperm tissue)。

Fig. 4. F_1 endosperm nuclei and embryo of TC 65×TC 65. 2 days after fertilization. 140 x. **Fig. 5.** F_1 endosperm nuclei and embryo of TC 65×*O. officinalis* Wall. 2 days after fertilization. 610 x. **Fig. 6.** F_1 embryo and endosperm of TC 65. XTC65. 3 days after fertilization. 130 x. **Fig. 7.** F_1 embryo and endosperm of TC 65×0. *off*icinalis Wall. 3 days fertilization. 310 x. **Fig. 8.** F_1 endosperm and embryo of TC 65×TC 65. 4 days after fertilization. 155 x. **Fig. 9.** F_1 endosperm and embryo of TC 65×*O. officinalis* Wall. 4 days after fertilization. 160 x.



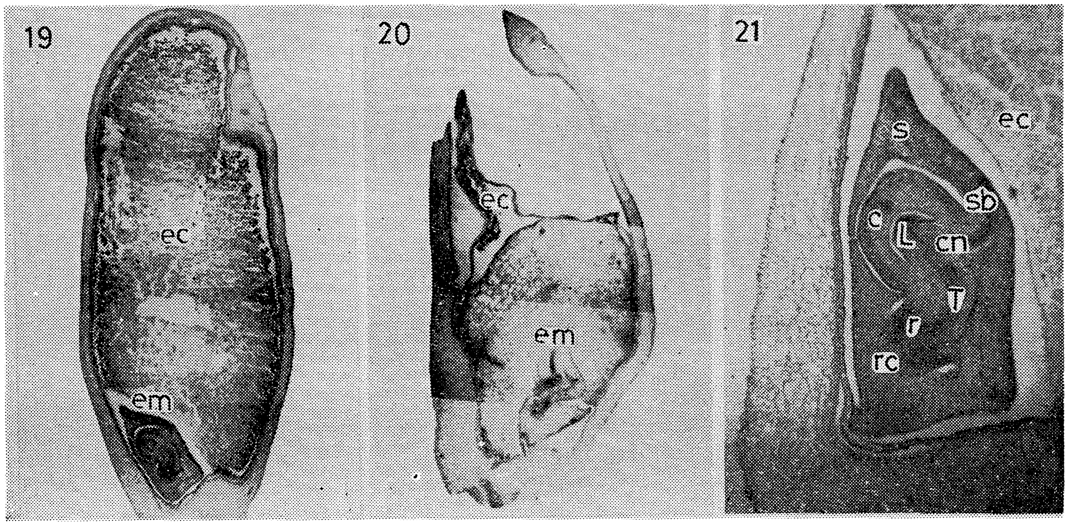
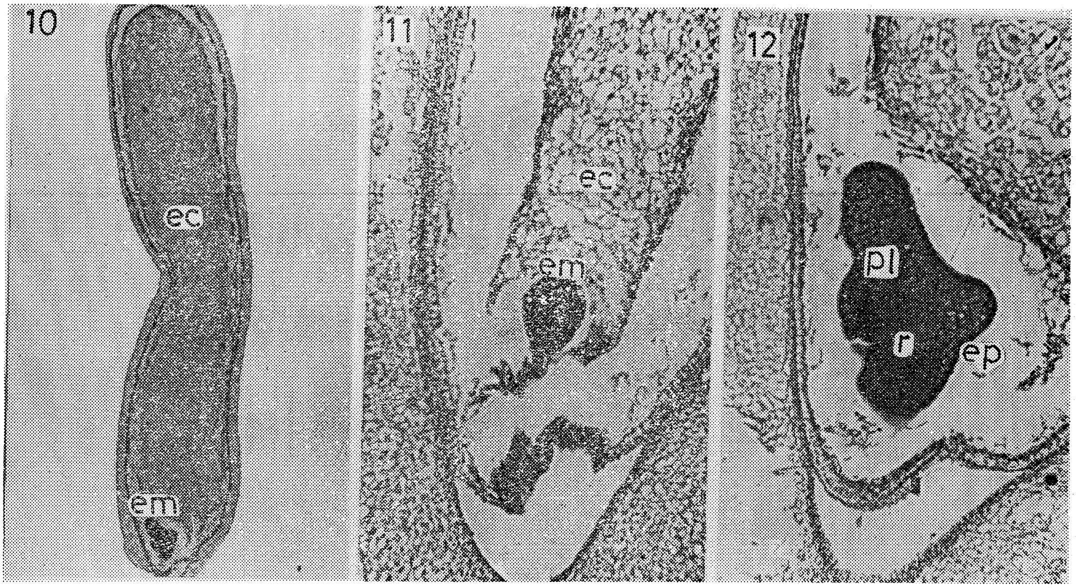


圖 **10**. 臺中 65 號×臺中 65 號及圖 **11**. 臺中 65 號×*O. officinalis* Wall, 授粉後 5 天之胚及胚乳，圖 **12**. 爲圖 10 之胚部放大。圖 **13**. 臺中 65 號×臺中 65 號及圖 **14**. 臺中 65 號× *O. officinalis* Wall,，授粉後 6 天之胚及胚乳。圖 **15**. 爲圖 13 之胚部放大。ec：胚乳細胞 (endosperm cells)，em：胚 (embryo)，r：幼根原始體 (primary root)， pl：幼芽原始體 (plumule)， ep 胚盤表皮 (epithelium)，c：鞘葉 (caleoptile)，IL：：第一本葉 (first foliage leaf)，s：：胚盤 (scutellar trace)， sb：胚盤維管束 (scutellar vascular bundle)，rc：根冠 (root cap) T：胚軸 (embryonic axis).

Fig. 10. F_1 endosperm of TC 65×TC 65. 5 days after fertilization. 130 x. **Fig. 11.** F_1 endosperm of TC 65×*O. officinalis* Wall. 5 days after fertilization. 300 x. **Fig. 12.** Enlargement of embryo shown in Fig. 10. 300 x. **Fig. 13.** F_1 endosperm of TC 65×TC 65. 6 days after fertilization. 90 x. **Fig. 14.** F_1 endosperm of TC 65×*O. officinalis* Wall. 6 days after fertilization. 330 x. **Fig. 15.** Enlargement of embryo shown in Fig. 13. 170 x.

訂正：第264頁之圖10—12應置於第263頁圖13—15之上方。
第263頁之圖19—21應置於第264頁圖16—18之下方。



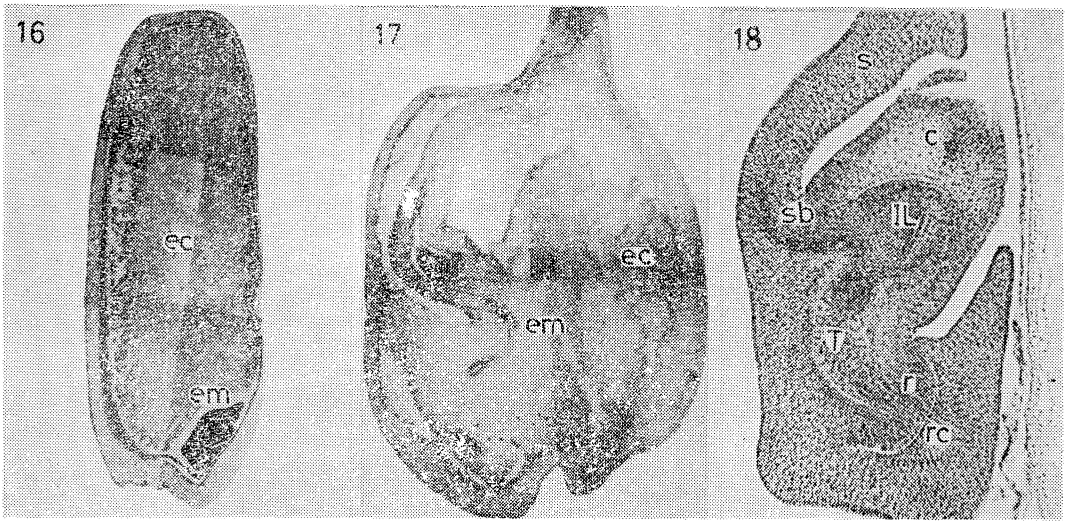


圖 16. 臺中 65 號×臺中 65 號及**圖 17.** 臺中 65 號× *O. officinalis* Wall, 授粉後 8 天之胚及胚乳。**圖 18.** 爲圖 16 之胚部放大。**圖 19.** 臺中 65 號×臺中 65 號及**圖 20.** 臺中 65 號 × *O. officinalis* Wall, 授粉後 10 天之胚及胚乳。**圖 21.** 爲圖 19 之胚部放大。ec：胚乳細胞 (endosperm cells), em：胚 (embryo), c：鞘葉 (coleoptile), IL：第一本葉 (first foliage leaf) s：胚盤 (scutellum) sb：胚盤維管束 (scutellar vascular bundle), rc：根冠 (root cap), T：胚軸(embryonic axis), r：幼根 (primary root). cn：子葉節 (cotyledonary node) L：本葉 (foliage leaf).

Fig. 16. endosperm of TC 65×TC 65. 8 days after fertilization. 75 x. **Fig. 17.** endosperm of TC 65×*O. officinalis* Wall. 8 days after fertilization. 95 x. **Fig. 18.** Enlargement of embryo shown in Fig. 16. 170 x. **Fig. 19.** endosperm of TC 65×TC 65. 10 days after fertilization. 90 x. **Fig. 20.** endosperm of TC 65×*O. officinalis* Wall. 10 days after fertilization. 95 x. **Fig. 21.** Enlargement of embryo shown in Fig. 19. 130 x.

參考文獻

1. Gotoh, K. and E. Okura. 1933. Cytological and genetical studies of *Oryza* Jap. Jour. Genet. 11: 130-131. (in Japanese).
2. Kihara, H. 1959. Considerations on the origin of cultivated rice. Seiken Ziho. 10: 68-83.
3. Li, H. W., T. S. Weng, C. C. Chen and W. H. Wang. 1961. Cytogenetical studies of *Oryza sativa* L. and its related species. 1. Hybrids *O. paraguaiensis* Wedd. × *O. brachyantha* Chev. *et* Roehr. *O. paraguaiensis* Wedd. ×*O. australiensis* Domin. and *O. australensis* Domin×*O. alta* Swallen. Bot. Bull. Acad. Sinica 2: 79-85.
4. Morinaga, T. 1943. Cytogenetical studies on *Oryza sativa* L. VI. The cytogenetics of F_1 hybrid of F_1 hybrid of *O.* minuta Presl. and *O. latieolia* Desv. Jap. Jour. Bot. 12: 345-357.
5. Morinaga, T. and H. Kuriyama. 1960. Interspecific crosses of rice species and their geome constitution Agr. & Hort. 35: 1-15. (in Japanese).
6. Richharia, H. R. 1960. Origin of cultivated rices. Ind. Jour. Genet. & Pl. Breed. 20: 1-14.
7. Roschevicz, R. J. 1931. A contribution to the knowledge of rice. Bull. Appl. Bot. Genet. and Plant-Breed. 27: 3-133.
8. Yeh, B. P. S. and M. T. Henderson. 1960. Cytological studies of rice. Proc. Rice Tech. Working Group. 9-10.
9. Yeh, B. P. S. and M. T. Henderson. 1961. Crop Science 1: 445-450.
10. 胡兆華•1963•稻遺傳學及細胞遺傳學之研究近況•科學農業 11(7、8):179~190。
11. 胡兆華•1963•稻及其近緣植物•科學農業 11(4):69~94。

Studies on embryo and endosperm development [1] following interspecific crosses in rice

by Te-mei Chang

Summary

Rice cultivar Taichung 65 (*Oryza sativa* L.) was crossed with *O. officiualis* Wall, a wild rice for observing the development of F_1 seeds. The F_1 seeds were sampled between 1 to 10 day after pollination, fixed, paraffin-sectioned (thickness 10-15μ) and examined. Cultivar Taichung 65 was also selfed by pollination and seed development was investigated similarly as comparison.

The normal rice caryopsis developed much faster in the longitudinal then in the transverse axis. It attained full length 4 days and full width 6 days after pollination. F_1 seeds obtained from the cross *O. sativa* and *O. officinalis* showed similar development in embryo and endosperm till 4 days after pollination. However, starting from the 5th day, its endosperm started to degenerate from the peripheral layer. Both embryo and endosperm deformed at the 6th day. There were irregular cell division of endosperm tissue and abnormal enlargement of scutellum. Between 8 and 10 days after pollination, the endosperm was totally degenerated and the embryo showed signifinant deformity.

It is possible to obtain healthly F_1 plants by embryo culture if the degeneration of hybrid endosperm is the main problem of crosses between cultivated and wild rices. The deformity of embryo might also affect the normal uptake of nutrient from endosperm. It is suggested that culturing young embryo 1 to 4 day after pollination would provide maximum possibility in obtaining F_1 plants of interspecific crosses in rice.

1. Contribution No. 846 from the Taiwan Agricultural Research Institute.